

UNTERSUCHUNGEN ZUR BEWERTUNG DER RESISTENZ VON WINTERRAPS
(BRASSICA NAPUS L.) GEGENÜBER VERTICILLIUM DAHLIAE

H. Pfeffer, E. Rudloff

Institut für Öl- und Futterpflanzenforschung "Hans Lembke"
O-2401 Malchow, Deutschland

Seit Anfang der 80er Jahre wird *Verticillium dahliae* in Deutschland an Winterraps beobachtet. Schäden konnten besonders in Gebieten mit langjährigem und konzentriertem Rapsanbau nachgewiesen werden. Bei einer Konzentration von 33 % der Ackerfläche wurde von DAEBELER et al. (1990) auf dem Gebiet der ehemaligen DDR in 4 Jahren eine Befallszunahme von 42 % ermittelt. In Schleswig Holstein sind nach PAUL und BECKMANN (1988) teilweise über 70 % befallene Pflanzen und sogar Totalausfälle aufgetreten. Zur Nutzung des Ertragspotentials und zur Sicherung der Ertragsstabilität ist der Einsatz von Fungiziden zur Bekämpfung der Verticilliose wenig effizient und zudem aus ökologischer Sicht abzulehnen. Einzig vertretbar scheint neben zielgerichteter Fruchtfolge der Anbau resistenter Sorten zu sein.

Voraussetzung für die Resistenzzüchtung ist unter anderem das Vorhandensein geeigneter Testmethoden, um Resistenzen schnell und sicher erfassen zu können. Die durchgeführten Untersuchungen hatten das Ziel, Prüfverfahren zu entwickeln, die den Anforderungen der Rapszüchtung im Hinblick auf Frühselektionsmethoden gerecht werden.

GEWÄCHSHAUS- BZW. LABORUNTERSUCHUNGEN

Die Untersuchungen wurden an Jungpflanzen durchgeführt. Zunächst kam es darauf an, eine geeignete Inokulationsmethode zu finden, die eine sichere Infektion gewährleistet. Geprüft wurden zwei prinzipiell unterschiedliche Verfahren:

1. Inokulation durch Eintauchen der verletzten Wurzeln in Sporensuspension
2. Inokulation durch Einsetzen von Rapspflanzen in verseuchten Boden

Es zeigte sich, daß an Jungpflanzen keine spezifischen Symptome auftraten. Dieses Ergebnis war unabhängig davon, mit welcher Methode inokuliert worden war. Auch durch Erhöhung der Dichte der Inokula gelang es nicht, die Ausprägung der Krankheit an Jungpflanzen zu induzieren. Die aus dem Freiland bekannten typischen Symptome erschienen erst kurz vor der Abreife, nachdem die Pflanzen in Töpfe umgesetzt und künstlich jarowisiert worden waren. Damit war die Zielstellung nicht erreicht.

Um den Erreger zur frühzeitigen Symptombildung zu veranlassen, wurde eine von SCHRAMM und HOFFMANN (1987) zum Nachweis von *Phoma lingam* entwickelte Methode für *V. dahliae* modifiziert. Die Pflanzenanzucht erfolgte 14 Tage in Erdkultur im Gewächshaus. Zur Inokulation mit Suspension wurden die Pflanzen dem Boden entnommen, 1 Stunde in Suspension mit einer Dichte von

3×10^6 Konidien/ml eingestellt und anschließend wieder in Erde gesetzt. Die Infektionsrate konnte durch gezielte mechanische Wurzelverletzungen erhöht werden. Zur Inokulation mit verseuchtem Boden wurden die Pflanzen ebenfalls nach 14 Tagen verletzt und anschließend in Boden gesetzt, der mit einem Quarzsand-Mikrosklerotien-Gemisch angereichert worden war. 3 Wochen nach der Inokulation wurden bei beiden Verfahren Blattstiele von den Pflanzen entnommen, oberflächlich sterilisiert, in eine feuchte Kammer gelegt und 10 Tage bei 20°C und UV-Belichtung inkubiert.

Mit dieser Methode konnte der latente Befall nicht nur nachgewiesen werden, was zuvor durch Re-Isolation bereits gelungen war, sondern auch eine Quantifizierung des Befalls erreicht werden. Nach dieser Behandlung traten deutliche Symptome in Form von Gefäßverbräunungen und Mikrosklerotienbildung auf, die mikroskopisch erfaßt wurden.

Die Bewertung des Befalls wurde mit folgendem Boniturschlüssel durchgeführt:

Boniturnote	Symptomausprägung
9	keine Symptome
7	Verbräunungen der Leitungsbahnen in sonst grünem Gewebe
5	Verbräunungen der Leitungsbahnen in mazeriertem Gewebe
3	vereinzelt Mikrosklerotienbildung
1	Gewebe völlig mit Mikrosklerotien durchgesetzt

Durch den Nachweis des latenten Befalls mit dem beschriebenen Verfahren war es möglich, die geprüften Inokulationsmethoden, deren Ergebnisse in Tabelle 1 dargestellt sind, vergleichend zu bewerten. Es wird deutlich, daß die Tauchinokulation einen wesentlich besseren Infektionserfolg nach sich zieht als die Inokulation mittels verseuchtem Boden. Der geringe Befallsgrad der Variante "Bodenverseuchung" konnte auch durch Erhöhung der Inokulumkonzentration nicht verändert werden. Wahrscheinlich dauert die Infektion bei Bodenverseuchung länger, so daß nach 3 Wochen noch keine Befallsbewertung vorgenommen werden kann. Diese Vermutung wird durch die Ergebnisse

Tabelle 1: Latente Infektion verschiedener Rapsorten durch *Verticillium dahliae* nach Inokulation von 14 Tage alten Pflanzen mit 2 unterschiedlichen Methoden

Sorten-Nr.	Eintauchen der Wurzeln in Sporensuspension	Einsetzen der Pflanzen in verseuchten Boden
1	8,72 a*	8,96 a
2	8,13 ab	8,85 a
3	7,54 bc	8,69 a
4	7,22 cd	8,80 a
5	6,31 e	9,00 a
6	6,04 e	8,60 a

* Werte, die nicht durch wenigstens einen gleichen Buchstaben gekennzeichnet sind, unterscheiden sich bei $\alpha = 0,05$ signifikant voneinander

der parallel zum beschriebenen Nachweisverfahren durchgeführten Re-Isolation des Erregers bestätigt, wonach der latente Befall in der Variante "Bodenverseuchung" um 20 % geringer war als nach Tauchinokulation.

FREILANDUNTERSUCHUNGEN

Die Freilanduntersuchungen wurden in den Jahren 1989 und 1990 an einem Sortiment von 24 Sorten durchgeführt. Zur Gewährleistung der Infektion wurde der Boden zusätzlich verseucht. Die als Inokulum verwendeten Mikrosklerotien waren zuvor auf einem Quarzsand-Maismehl-Nährmedium im Labor erzeugt worden. Nach dem Auflaufen der Pflanzen wurden 200g/m² dieses Inokulums zwischen die Pflanzenreihen in den Boden eingebracht. Die Prüfungen waren als lateinisches Rechteck mit 4 facher Wiederholung und einer Parzellengröße von 3,75 m² angelegt. Die Befallsermittlung wurde nach der Ernte an den Stoppeln von 30 Pflanzen/Wiederholung durchgeführt.

Für die Bewertung des Verticillium-Befalls im Freiland wurde folgender Boniturschlüssel verwendet:

Boniturnote	Symptomausprägung
9	keine Symptome
7	Verfärbungen der Leitungsbahnen
5	charakteristische Streifenbildung, Mikrosklerotien äußerlich nicht sichtbar
3	Mikrosklerotien sichtbar, Epidermis aufgerissen, Pflanze noch nicht abgestorben
1	Pflanze abgestorben, vollständig von Mikrosklerotien durchsetzt

Aus den erzielten Boniturnoten wurden Mittelwerte gebildet, denen Ränge zugeordnet wurden. Der Vergleich der Sortenränge zwischen beiden Versuchsjahren, der an 10 Sorten in Tabelle 2 dargestellt ist, macht deutlich, daß die Verticillium-Resistenz sortenabhängig und damit züchterisch beeinflussbar ist.

Tabelle 2: Vergleich von 10 Winterrapssorten anhand von Boniturmittelwerten und Sortenrängen bezüglich Verticillium-Resistenz in den Jahren 1989 und 1990

Sorten-Nr.	1989		1990	
	Bonitur \bar{x}	Rang	Bonitur \bar{x}	Rang
10	8,63	3	7,90	1
9	8,51	2	7,96	2
6	8,47	1	8,07	3
8	8,74	6	8,22	4,5
2	8,76	8,5	8,22	4,5
5	8,75	7	8,33	6
3	8,76	8,5	8,35	7
7	8,67	4	8,36	8
1	8,71	5	8,43	9
4	8,87	10	8,52	10

Der aus den Werten errechnete Korrelationskoeffizient weist mit $r=0,765$ bei der gegebenen Anzahl von Wertepaaren einen mit $\alpha = 0,05$ signifikanten Zusammenhang aus, der auch für das gesamte Sortiment nachgewiesen werden konnte.

Trotz des geringen Befalls in den Untersuchungsjahren, in denen nur maximal 20 % der Pflanzen Symptome gebildet hatte, konnten signifikante Befallsdifferenzen im geprüften Sortiment nachgewiesen werden.

Der geringe Befall wird unter anderem auf extreme Trockenheit zurückgeführt, wie sie beispielsweise im Frühjahr 1989 zu verzeichnen war, da hohe Bodentemperaturen und niedriges Wasserpotential zum schnellen Absterben der Mikrosklerotien von *V. dahliae* führen und damit das Inokulum-Potential im Boden negativ beeinflußt wird (DE VAY und PULLMANN, 1984; GREEN, 1980). Frühreifende Sorten konnten sowohl durch einen höheren Anteil befallener Pflanzen als auch durch eine höhere Befallsstärke von spätreifenden Sorten signifikant unterschieden werden. Sowohl der offensichtliche Umwelteinfluß auf die Verticillium-Infektion als auch die Abhängigkeit des Befalls vom Reifezeitpunkt der Sorten verdeutlichen die Schwierigkeit der Resistenzprüfung unter Freilandbedingungen.

Ein Vergleich von Samen befallener und unbefallener Pflanzen ergab, wie aus Tabelle 3 zu ersehen ist, daß der Verticillium-Befall einen negativen Einfluß auf Rohfettgehalt und Tausendkorngewicht von Winterraps ausübt, wodurch die Relevanz der Verticillium-Resistenz deutlich wird.

Tabelle 6: Ermittlung von Rohfettgehalt und Tausendkorngewicht (TKG) an Samen befallener und unbefallener Pflanzen

Sorten-Nr.	Pflanzen ohne Befall		Pflanzen mit Befall	
	Rohfettgehalt (%)	TKG (g)	Rohfettgehalt (%)	TKG (g)
15	42,9	4,65	36,3	3,18
18	43,3	5,62	38,8	2,77
\bar{x}	43,1	5,14	37,6	2,98

ZUSAMMENFASSUNG

Verticillium-Befall kann insbesondere bei konzentriertem Rapsanbau die Ertragssicherheit gefährden, dem durch Anbau resistenter Sorten am effizientesten entgegengewirkt werden kann. Die durchgeführten Untersuchungen dienen der Entwicklung geeigneter Resistenzprüfverfahren für die Züchtung.

Für die Prüfungen im Freiland wurde der Boden mit Mikrosklerotien verseucht. Trotz niedrigen Befalls konnten signifikante Sortendifferenzen nachgewiesen werden. Es zeigte sich, daß frühreife Sorten stärker befallen waren als späte.

In Gewächshaus- und Laborprüfungen wurde nach verschiedenen Inokulationsverfahren der latente Befall von Rapsorten ermittelt. Signifikante Befallsunterschiede konnten nach Wurzel-tauchinokulation ermittelt werden.

LITERATUR

- DAEBELER, F.; AMELUNG, D.; SEIDEL, D: Die Fruchtfolge beim Winterraps - eine wichtige Voraussetzung für gesunde Bestände I. Pilzliche Schaderreger. - Feldwirtschaft, Berlin 31 (1990) 6, 241-288
- DE VAY, J.E.; PULLMANN, G.S.: Epidemiology and ecology of diseases caused by *Verticillium* species, with emphasis on *Verticillium* wilt of cotton. - International *Verticillium* Symposium, *Phytopathology Mediterran* 23 (1984) 2-3, 95-108
- GREEN, R.J.: Soil factors affecting survival of microsclerotia of *Verticillium dahliae*. - *Phytopathology* 70 (1980) 353-355
- PAUL, V.H.; BECKMANN, B.: Probleme bei der Diagnose von *Verticillium dahliae* Kleb., dem Erreger der Rapswelke und -stengelfäule. - *Pests and Diseases in Oilseed Rape*, 1988, Univ. Rostock
- SCHRAMM, H.; HOFFMANN, G.M.: Infektionszeit und Befallsentwicklung der Phoma-Wurzelhals- und Stengelfäule (*Phoma lingam*, Perf. Stadium *Leptosphaeria maculans* [Desm.] Ces. et de Not.) an Winterraps, Auswirkungen von Fungizidbehandlungen. *Gesunde Pflanzen*, Berlin, Hamburg 39 (1987) 8, 338-344